

КЛИНИЧЕСКАЯ ЛАБОРАТОРНАЯ ДИАГНОСТИКА CLINICAL LABORATORY DIAGNOSTICS

ОЦЕНКА РЕФЕРЕНСНЫХ ИНТЕРВАЛОВ АЦИЛКАРНИТИНОВ У НОВОРОЖДЁННЫХ СИБИРИ

Немчинова Н.В.,
Баирова Т.А.,
Бельских А.В.,
Бугун О.В.,
Рычкова Л.В.

ФГБНУ «Научный центр проблем
здоровья семьи и репродукции
человека» (664003, г. Иркутск,
ул. Тимирязева, 16, Россия)

Автор, ответственный за переписку:
Немчинова
Надежда Владимировна,
e-mail: nemchinova.nad@gmail.com

РЕЗЮМЕ

Обоснование. Частота заболеваний, связанных с нарушением транспорта и окисления жирных кислот, составляет 1:5000 – 1:9000 новорождённых. Высокая заболеваемость, риск летального исхода при отсутствии своевременной коррекции, неспецифичность клинических проявлений обуславливают важность их своевременной лабораторной диагностики, основанной на определении свободного карнитина и ацилкарнитинов в крови. Референсные значения свободного карнитина и ацилкарнитинов варьируют в разных популяциях.

Цель исследования. Определение референсных интервалов свободного карнитина и ацилкарнитинов у новорождённых детей Иркутской области и их сравнение с аналогичными показателями в других странах мира.

Методы. Проведён анализ 229 образцов сухих пятен крови здоровых новорождённых детей Иркутской области в возрасте от 0 до 7 дней. Анализ концентраций ацилкарнитинов проводился с использованием высокоэффективной жидкостной хроматографии с тандемной масс-спектрометрией.

Результаты. Для 13 ацилкарнитинов рассчитаны 2,5-й и 97,5-й перцентили (мкмоль/л): C0 – [8,78; 38,08]; C2 – [3,55; 19,09]; C3 – [0,33; 1,96]; C4 – [0,08; 0,51]; C5 – [0,06; 0,44]; C5DC – [0,03; 0,17]; C6 – [0,01; 0,07]; C8 – [0,01; 0,07]; C10 – [0,02; 0,07]; C12 – [0,04; 0,51]; C14 – [0,07; 0,24]; C16 – [0,58; 3,25]; C18 – [0,35; 1,16].

Заключение. Выявлены различия референсных интервалов ацилкарнитинов: C0, C2, C3, C5DC, C8, C10, C14, C16 и C18 – ниже в нашем исследовании, C5 и C12 – выше в нашем исследовании по сравнению с аналогичными параметрами у новорождённых других популяций мира.

Ключевые слова: ацилкарнитины, новорождённые, референсы, ВЭЖХ-МС/МС

Статья поступила: 16.06.2022
Статья принята: 02.09.2022
Статья опубликована: 08.12.2022

Для цитирования: Немчинова Н.В., Баирова Т.А., Бельских А.В., Бугун О.В., Рычкова Л.В. Оценка референсных интервалов ацилкарнитинов у новорождённых Сибири. *Acta biomedica scientifica*. 2022; 7(5-1): 86-99. doi: 10.29413/ABS.2022-7.5-1.10

ASSESSMENT OF REFERENCE INTERVALS OF ACYLCARNITINES IN NEWBORNS IN SIBERIA

Nemchinova N.V.,
Bairova T.A.,
Belskikh A.V.,
Bugun O.V.,
Rychkova L.V.

Scientific Centre for Family Health
and Human Reproduction Problems
(Timiryazeva str. 16, Irkutsk 664003,
Russian Federation)

Corresponding author:
Nadezhda V. Nemchinova,
e-mail: nemchinova.nad@gmail.com

ABSTRACT

Background. The incidence of diseases associated with impaired transport and oxidation of fatty acids is from 1:5,000 to 1:9,000 newborns. High morbidity, risk of death in the absence of timely correction, non-specificity of clinical manifestations define the importance of their timely laboratory diagnosis based on the determination of free carnitine and acylcarnitines in the blood. Reference values for free carnitine and acylcarnitines vary in different populations.

The aim. To determine the reference intervals of free carnitine and acylcarnitines in newborns of the Irkutsk region and to compare them with similar reference intervals in newborns in other countries.

Methods. The analysis of 229 samples of dry blood spots of healthy newborn children of the Irkutsk region aged from 0 to 7 days was carried out. Analysis of acylcarnitine concentrations was performed using high performance liquid chromatography with tandem mass spectrometry.

Results. 2.5 and 97.5 percentiles ($\mu\text{mol/l}$) were calculated for 13 acylcarnitines: C0 – [8.78; 38.08]; C2 – [3.55; 19.09]; C3 – [0.33; 1.96]; C4 – [0.08; 0.51]; C5 – [0.06; 0.44]; C5DC – [0.03; 0.17]; C6 – [0.01; 0.07]; C8 – [0.01; 0.07]; C10 – [0.02; 0.07]; C12 – [0.04; 0.51]; C14 – [0.07; 0.24]; C16 – [0.58; 3.25]; C18 – [0.35; 1.16].

Conclusion. Differences in acylcarnitine reference intervals were found: compared with other countries, the concentrations of reference intervals for C0, C2, C3, C5DC, C8, C10, C14, C16 and C18 were lower in our study, reference intervals for C5 and C12 were higher in our country.

Key words: acylcarnitines, newborns, references, HPLC-MS/MS

Received: 16.06.2022
Accepted: 02.09.2022
Published: 08.12.2022

For citation: Nemchinova N.V., Bairova T.A., Belskikh A.V., Bugun O.V., Rychkova L.V. Assessment of reference intervals of acylcarnitines in newborns in Siberia. *Acta biomedica scientifica*. 2022; 7(5-1): 86-99. doi: 10.29413/ABS.2022-7.5-1.10

АКТУАЛЬНОСТЬ

Сегодня неонатальный скрининг включает исследование на выявление пяти генетических заболеваний: фенилкетонурии, муковисцидоза, галактоземии, врожденной гиперплазии надпочечников и гипотиреоза. С января 2023 г. в Российской Федерации повсеместно внедряется расширенная программа скрининга новорожденных на 36 заболеваний, в том числе на нарушения транспорта и окисления жирных кислот.

Заболевания, связанные с нарушением транспорта и окисления жирных кислот, занимают важное место в структуре детской заболеваемости и смертности, т. к. имеют достаточно высокую распространенность (1:5000 – 1:9000 новорожденных) и летальность, которая достигает 20% [1, 2]. Известно около полутора десятков заболеваний, связанных с нарушением транспорта и окисления жирных кислот [3, 4]. Данные заболевания имеют сходные полиморфные клинические проявления, в том числе гипокетотическую гипогликемию, судорожные приступы, дисфункцию печени, кардиомиопатию [5], что затрудняет диагностический процесс.

D. McHugh и соавт., а также авторы других работ указывают на различия в уровнях ацилкарнитинов у жителей, проживающих на разных территориях, в разных странах [6–8]. A. Bermúdez и соавт. свидетельствуют о различии уровней ацилкарнитинов у представителей разных этнических групп в пределах одной страны [9].

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Определение референсных интервалов свободного карнитина и ацилкарнитинов у новорожденных детей Иркутской области и их сравнение с аналогичными данными других стран.

Дизайн исследования: обсервационное.

Характеристика обследуемых

Материалом для исследования явились сухие пятна крови 229 здоровых новорожденных детей Иркутской области, полученные в рамках массового регионального неонатального скрининга в соответствии с Приказом Министерства здравоохранения и социального развития Российской Федерации от 22.03.2006 № 185 «Положение об организации проведения массового обследования новорожденных детей на наследственные заболевания». Из 229 новорожденных – 115 (50,22%) мальчиков и 114 (49,78%) девочек. Медиана возраста новорожденных составила 3 дня (Q1 = 3 дня; Q3 = 4 дня). Средняя масса тела при рождении составила 3393 ± 461 г, в том числе у мальчиков – 3438 ± 485 г, у девочек – 3346 ± 431 г.

Критерии включения:

1. Новорожденные (срок гестации – 37–42 недели беременности).
2. Вес при рождении – 2500–4000 г.
3. Оценка по шкале Апгар через 10 минут – более 7 баллов.
4. Возраст от 3 до 7 дней/

5. Грудное вскармливание на момент забора крови.
6. Забор крови из пятки новорожденного ребенка через 3 часа после кормления.

Критерии исключения:

1. Недоношенные (рожденные в срок гестации менее 36 недель включительно).
2. Наличие врожденных нарушений обмена веществ.
3. Наличие заболеваний печени, почек, сердца, скелетных мышц.
4. Наличие судорог, пороков развития.
5. Указание на проведение медикаментозной терапии.
6. Наличие сахарного диабета у матери.
7. Отсутствие информированного согласия матери.

Исследование проведено с соблюдением принципов Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации (Бразилия, 2013). Родители новорожденных информированы о научной стороне исследования и подписали информированное согласие.

Методы исследования.

Пробоподготовку образцов осуществляли набором реагентов «MassChrom® Amino Acids and Acylcarnitines from Dried Blood» (Chromsystems, Германия). Исследование проводилось методом высокоэффективной жидкостной хроматографии в сочетании с тандемной масс-спектрометрией (ВЭЖХ-МС/МС) на приборе «Shimadzu LCMS-8060» (Shimadzu, Япония).

Данная работа выполнена с использованием оборудования ЦКП «Центр разработки прогрессивных персонализированных технологий здоровья» ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека» (Иркутск).

Статистический анализ выполнен с использованием программ SPSS Statistics, версия 26.0 (IBM Corp., США) и Jamovi, версия 2.2.5 (Jamovi, США). Значения ацилкарнитинов, характеристики новорожденных (пол, возраст и вес) описывали с помощью описательной статистики. Результаты представили в виде среднего значения (M) и стандартного отклонения (SD) или в виде медианы (Me) и 25-го и 75-го перцентилей. Проверка на нормальность распределения выполнялась с использованием теста Шапиро – Уилка. Для сравнения результатов уровней ацилкарнитинов с данными других популяций рассчитывали 0,1-й, 1-й, 2,5-й, 97,5-й, 99-й и 99,5-й перцентили и 95%-й доверительный интервал (95% ДИ).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Жирные кислоты (ЖК) являются важным источником энергии организма. Энергетическая роль жирных кислот возрастает в условиях интеркуррентных заболеваний, голодания [3, 10], что определяет эти состояния как триггерные в реализации клинического фенотипа.

Для осуществления окисления ЖК необходима определенная последовательность биохимических реакций:

1. Транспорт жирных кислот в митохондрию (проникновение ЖК через наружную и внутреннюю мембрану митохондрий).

ТАБЛИЦА 1

ПЕРВИЧНЫЕ И ВТОРИЧНЫЕ МЕТАБОЛИТЫ В-ОКИСЛЕНИЯ И ИХ СООТНОШЕНИЯ ПРИ РАЗНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ, СВЯЗАННЫХ С НАРУШЕНИЕМ ТРАНСПОРТА И ОКИСЛЕНИЯ ЖИРНЫХ КИСЛОТ [3, 4]

TABLE 1

PRIMARY AND SECONDARY METABOLITES OF B-OXIDATION AND THEIR RATIOS IN VARIOUS DISEASES ASSOCIATED WITH IMPAIRED TRANSPORT AND OXIDATION OF FATTY ACIDS [3, 4]

Заболевания	Фермент	Первичные маркеры	Вторичные маркеры	Соотношения ацилкарнитинов	Органические кислоты и ацилглицины в моче
Пропионовая ацидемия	Пропионил-КоА-карбоксилаза	C3 ↑	Глицин ↑	C3/C0; C3/C4; C3/C16	3- гидроксипропионовая, метиллимонная кислоты, пропионил- и тиглилглицин
Метилмалоновая ацидурия (тип mut)	Метилмалонил-КоА-мутаза				
Метилмалоновая ацидурия (типы Cbl A и B)	Митохондриальная кобаламин транслоказа, АТФ: кобаламинаденозилтрансфераза	C3 ↑	Глицин ↑	C3/C0; C3/C4; C3/C16	Метилмалоновая, 3-гидроксипропионовая, 3-гидрокси-п-валериановая, метиллимонная кислоты, пропионилглицин
Метилмалоновая ацидурия (типы Cbl C и D)	Метилмалонил-КоА-мутаза, метионинсинтаза		Метионин ↑ C16:1OH ↑		
Изовалериановая ацидемия	Изовалерил-КоА-дегидрогеназа	C5 ↑	-	C5/C3; C5/C4; C5/C8	Изовалериановая, 3-гидроксиизовалериановая кислоты и изовалерилглицин
Множественный дефицит карбоксилаз	Биотинидаза либо синтетаза голокарбоксилаз	C5OH ↑	C3 n/ ↑	-	-
3- метилкротонилглицинурия	3-метилкротонил-КоА-карбоксилаза	C5OH ↑	-	-	-
Глутаровая ацидемия I типа	Глутарил-КоА-дегидрогеназа	C5DC ↑	-	C5DC/C4; C5DC/C8; 5DC/C12; C5DC/C3DC	Глутаровая и 3-ОН-глутаровая кислоты
Дефицит 3-ОН-3 метилглутарил-КоА-лиазы	3-гидрокси-3-метилглутарил-КоА-лиаза	C5OH ↑	C6DC n/ ↑	-	3-гидрокси-3-метилглутаровая, 3-метилглутаровая, 3-гидроксиизовалериановая кислоты, 3-метилкротонилглицин
Дефицит β-кетотиолазы	Митохондриальная ацетоацетил-КоА-тиолаза	C5:1 ↑	C5OH n/ ↑	-	2-метил-3-гидроксимасляная и 2-метилацетоуксусная кислоты, тиглилглицин

ТАБЛИЦА 1 (продолжение)

TABLE 1 (continued)

Заболевания	Фермент	Первичные маркеры	Вторичные маркеры	Соотношения ацилкарнитинов	Органические кислоты и ацилглицины в моче
Первичный дефицит карнитина	Плазменный мембранный транспортер карнитина	C0 ↑	-	-	Норма
Дефицит среднецепочечной ацил-КоА дегидрогеназы жирных кислот (MCAD)	Среднецепочечная ацил-КоА-дегидрогеназа жирных кислот	C6 ↑; C8 ↑; C10:1 ↑	C10 ↑	C6/C8 ↑; C8/C10 ↑; C8/C2 ↑	От C6 до C8 гексаноилглицин, суберилглицин, фенилпропионилглицин
Дефицит ацил-КоА-дегидрогеназы с очень длинной цепью (VLCAD)	Ацил-КоА-дегидрогеназа с очень длинной цепью	C14:1 ↑	C14 n/ ↑; C16 n/ ↑; C18:1 n/ ↑	C14:1/C4; C14:1/C5; C14:1/C8	Дикарбоновые кислоты от C6 до C14
Дефицит длинноцепочечной гидроксиацил-КоА-дегидрогеназы (LCHAD)	Длинноцепочечная гидроксиацил-КоА-дегидрогеназа	C16-OH ↑; C16:1-OH ↑; C18-OH ↑; C18:1OH ↑	-	↑ C16-OH/C16	ОН-дикарбоновые кислоты от C6 до C14; дикарбоновые кислоты от C6 до C14
Дефицит митохондриального трифункционального белка (MTP)	Ферментный комплекс: длинноцепочечные еноил-КоА-гидратаза, 3-гидроксиацил-КоА-дегидрогеназа и 3-кетацил-КоА-тиолаза	C16-OH ↑; C16:1-OH ↑	C18-OH ↑; C14 ↑	↑ C16-OH/C16	
Малоновая ацидурия	Малонил-КоА-декарбоксилаза	C3DC ↑	-	-	-
Дефицит 2-метил-3-ОН-бутирил-КоА-дегидрогеназы	2-метил-3-гидроксибутирил-КоА-дегидрогеназа	C5OH ↑	-	-	2-метил-3-гидроксибутират и тиглилглицин
Дефицит короткоцепочечной ацил-КоА-дегидрогеназы (SCAD)	Короткоцепочечная ацил-КоА-дегидрогеназа	C4 ↑	-	-	Этилмалоновая, метилантарная кислоты, бутирилглицин
Глутаровая ацидемия II типа (MAD)	Электрон-переносащий флавопротеин	C4-C18 ↑	-	↑ C8/C2; ↑ C14:1/C2	Изовалерил, гексаноил- и суберилглицины
Дефицит короткоцепочечной гидроксиацил-КоА-дегидрогеназы (HAD)	Короткоцепочечная гидроксиацил-КоА-дегидрогеназа	C4OH ↑; C6OH ↑	-	↑ C4-OH/C4	3-ОН-глутаровая кислота, дикарбоновые и ОН-дикарбоновые кислоты от C6 до C14
Дефицит 2,4-диеноил-КоА-редуктазы (DECR1)	2,4-диеноил-КоА-редуктаза	C10:2 ↑	-	-	Норма или гиперлизинемия

ТАБЛИЦА 1 (продолжение)

TABLE 1 (continued)

Заболевания	Фермент	Первичные маркеры	Вторичные маркеры	Соотношения ацилкарнитинов	Органические кислоты и ацилглицины в моче
Дефицит длинноцепочечной 3-кетоацил-КоА-тиолазы (LCKAT)	Длинноцепочечная 3-кетоацил-КоА-тиолаза	C14:1 ↑ и C16:1 ↑; C16OH ↑ и C18:1OH ↑	-	-	Дикарбоновые и ОН-дикарбоновые кислоты
Дефицит 3-метилглютаконил-КоА-гидратазы	3-метилглютаконил-КоА-гидратаза	C5OH ↑	-	-	3-метилглютаконовая и 3-метилглутаровая кислоты
Дефицит изобутирил-КоА-дегидрогеназы	Изобутирил-КоА-дегидрогеназа	C4 ↑	-	-	-
Дефицит карнитин-ацилкарнитин-транслоказы (CACT)	Карнитин-ацилкарнитинтранслоказа	C16 ↑; C16:1 ↑; C18 ↑; C18:1 ↑	-	↑ (C16 + C18:1)/C2; ↓ C0/(C16 + C18)	Тяжелая дикарбоновая ацидурия с избытком ненасыщенных дикарбоновых кислот
Дефицит карнитинпальмитоил-трансферазы II (CPT II)	Карнитинпальмитоилтрансфераза 2	C16 ↑; C18:1 ↑	C2 ↓	↑ (C16 + C18:1)/C2 в течение 10 дней жизни; ↓ C0/(C16 + C18)	Норма
Дефицит карнитинпальмитоил-трансферазы I (CPT I)	Карнитинпальмитоилтрансфераза 1	C16 ↓; C18 ↓	C0 n/ ↑	↑ C0/(C16 + C18) в течение 10 дней жизни; ↓ (C16 + C18:1)/C2	Дикарбоновые кислоты C12

2. Поэтапное укорочение углеродной цепочки жирных кислот до получения конечного продукта – ацетил-коэнзима А (ацетил-КоА).

Выделяют короткоцепочечные (< C6), среднецепочечные (C6–C12) и длинноцепочечные (C14–C20) жирные кислоты. Каждый этап укорочения углеродной цепочки сопряжён с использованием различных ферментов и переносчиков. Диагноз врождённых нарушений метаболизма ацилкарнитинов основан на их количественном анализе. Изменение концентраций ацилкарнитинов свидетельствует о нарушении работы ферментов, участвующих в β-окислении (табл. 1).

Концентрации метаболитов у младенцев с наследственными заболеваниями транспорта и окисления жирных кислот превышают соответствующие пороговые значения. Концентрация метаболитов зависит от метаболического статуса новорождённого [8], его этнической и/или расовой принад-

лежности [9, 11], рациона питания [8] и зрелости младенцев [7, 12], а также от отклонений в технологии забора, хранения и выполнения исследования ацилкарнитинов [7, 11].

Зависимая от времени деградация метаболитов при длительном хранении высушенных фильтр-карт может определять изменение концентрации метаболитов [13]. В связи с этим прежде чем устанавливать окончательную клиническую ценность результатов, необходимо стандартизировать физиологические и преаналитические переменные, аналитические методы, обработку данных и представление результатов [14].

В данной работе проведён анализ концентрации ацилкарнитинов у здоровых новорождённых через 1–1,5 месяца после забора биоматериала, сгенерированы перцентильные ряды концентрации 13 ацилкарнитинов (табл. 2).

Сравнение результатов собственного исследования с данными других стран представлено в таблице 3.

ТАБЛИЦА 2
ПЕРЦЕНТИЛИ АЦИЛКАРНИТИНОВ В 229 СУХИХ ПЯТНАХ КРОВИ НОВОРОЖДЁННЫХ ДЕТЕЙ ИРКУТСКОЙ ОБЛАСТИ

TABLE 2
ACYLCARNITINES PERCENTILES IN DRY BLOOD SPOTS OF 229 NEWBORNS OF THE IRKUTSK REGION

Ацилкарнитины	Концентрации ацилкарнитинов (мкмоль/л), Me (95 %)						
	Перцентили	0,1-й	1-й	2,5-й	97,5-й	99-й	99,5-й
Короткоцепочечные ацилкарнитины							
Карнитин свободный (C0)		8,39 (8,39; 8,64)	8,47 (8,39; 8,83)	8,78 (8,58; 11,12)	38,08 (34,34; 40,88)	41,98 (37,74; 47,58)	46,85 (39,18; 47,58)
Ацетилкарнитин (C2)		2,95 (2,95; 3,52)	3,11 (2,95; 3,56)	3,55 (3,13; 3,94)	19,09 (16,02; 24,82)	25,27 (19,06; 25,58)	25,58 (19,18; 25,58)
Пропионилкарнитин (C3)		0,23 (0,23; 0,33)	0,24 (0,23; 0,35)	0,33 (0,27; 0,41)	1,96 (1,64; 2,18)	2,18 (1,90; 2,84)	2,74 (2,12; 2,84)
Бутирилкарнитин (C4)		0,07 (0,07; 0,07)	0,07 (0,07; 0,08)	0,08 (0,07; 0,08)	0,51 (0,42; 0,73)	0,77 (0,49; 0,80)	0,80 (0,67; 0,80)
Изовалерилкарнитин (C5)		0,05 (0,05; 0,06)	0,05 (0,05; 0,06)	0,06 (0,05; 0,07)	0,44 (0,33; 0,59)	0,73 (0,43; 0,83)	0,83 (0,48; 0,83)
Глутарилкарнитин (C5DC)		0,02 (0,02; 0,02)	0,02 (0,02; 0,03)	0,03 (0,02; 0,03)	0,17 (0,14; 0,19)	0,19 (0,16; 0,20)	0,20 (0,18; 0,20)
Среднецепочечные ацилкарнитины							
Гексаноилкарнитин (C6)		0,01 (0,01; 0,01)	0,01 (0,01; 0,01)	0,01 (0,01; 0,02)	0,07 (0,06; 0,09)	0,12 (0,07; 0,14)	0,14 (0,07; 0,14)
Октаноилкарнитин (C8)		0,01 (0,01; 0,01)	0,01 (0,01; 0,01)	0,01 (0,01; 0,01)	0,07 (0,05; 0,07)	0,07 (0,07; 0,07)	0,07 (0,07; 0,07)
Деканоилкарнитин (C10)		0,01 (0,01; 0,02)	0,02 (0,01; 0,02)	0,02 (0,02; 0,02)	0,07 (0,06; 0,08)	0,08 (0,07; 0,10)	0,10 (0,07; 0,10)
Додеcanoилкарнитин (C12)		0,04 (0,04; 0,04)	0,04 (0,04; 0,04)	0,04 (0,04; 0,05)	0,51 (0,42; 0,56)	0,58 (0,50; 0,59)	0,59 (0,54; 0,59)
Длинноцепочечные ацилкарнитины							
Миристоилкарнитин (Тетрадеcanoил, C14)		0,05 (0,05; 0,06)	0,06 (0,05; 0,07)	0,07 (0,06; 0,07)	0,24 (0,22; 0,26)	0,26 (0,23; 0,27)	0,27 (0,26; 0,27)
Пальмитоилкарнитин (C16)		0,37 (0,37; 0,54)	0,54 (0,37; 0,64)	0,58 (0,54; 0,81)	3,25 (2,72; 3,94)	4,80 (3,20; 5,37)	5,37 (3,40; 5,37)
Октадеcanoилкарнитин (Стеароил, C18)		0,31 (0,31; 0,34)	0,31 (0,31; 0,36)	0,35 (0,32; 0,38)	1,16 (1,07; 1,31)	1,32 (1,14; 1,32)	1,32 (1,29; 1,32)

ТАБЛИЦА 3
СРАВНЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ
С ДАННЫМИ ДРУГИХ ИССЛЕДОВАТЕЛЕЙ

TABLE 3
COMPARISON OF THE RESULTS OF OUR STUDIES WITH THE DATA
OF OTHER RESEARCHERS

Страна	МГЦ	45 стран	GD производителя (Германия)	GD производителя (Австрия)	Колумбия	Бангладеш	Китай		Китай (Jining city)	Тибет	Норвегия
Ссылка	[15]	D.M.S. McHugh, 2011 [6]	Руководство производителя [16]		N. Céspedes, 2017 [7]	S.K. Sarker, 2019 [11]	F. He, 2021 [12]		C.-J. Yang, 2018 [17]	Ch. Zhang, 2019 [8]	T. Tangeraas, 2020 [18]
Возраст	–	1–5 дней	0–28 дней	0–28 дней	1–18 дней	1–7 дней	от 2 дней до ≤3 дней		3–37 дней	Новорождённые	Новорождённые
N	–	25–30 млн	1500	2500	891	120	1 053 952		100 077	15 029	461 369
Биоматериал	–	DBS		DBS	DBS	DBS	DBS		DBS	DBS	DBS
Cutt-off	min: max	1:99ile	99,5ile	99,5ile	1:99ile	2,5:97,5ile	2,5:97,5ile мальчики	2,5:97,5ile девочки	порог клинической манифестации нарушений обмена ацилкарнитинов	1:99ile	пороговые значения
Carnitine	8:190	11 [#] :59 [#]	60,3 [#] min 5,2	49,8 [#] min 8,0	13,63 [#] :78,74 [#]	15,60 [#] :73,73 [#]	11,30 [#] :37,73	10,65 [#] :34,69	> 50 < 10	9,56 [#] :66,22 [#]	<0,6
C2 Carnitine	6:75	10 [#] :52 [#]	47,8 [#]	57,3 [#]	9,02 [#] :54,31 [#]	6,88 [#] :64,68 [#]	8,78 [#] :32,74 [#]	8,17 [#] :30,42 [#]	–	1,12 [#] :36,63 [#]	–
C3 Carnitine	0,13:7,4	0,57 [#] :4,74 [#]	4,72 [#]	4,88 [#]	0,23:4,05 [#]	0,61 [#] :6,88 [#]	0,77 [#] :2,95 [#]	0,74 [#] :2,84 [#]	> 4	0,26:4,28 [#]	4,75
C4 Carnitine	0:1,3	0,08:0,75	0,81 [#]	0,62 [*]	0,07:0,64	0,08:0,63	0,10 [#] :0,33 [*]	0,11 [#] :0,36 [*]	> 0,45	0,08:0,47 [*]	–
C5 Carnitine	0:1	0,05:0,39 [*]	0,45 [*]	0,46 [*]	0,09 [#] :0,59	0,09 [#] :0,55	0,05:0,17 [*]	0,04 [#] :0,18 [*]	> 0,43	0,04 [#] :0,39 [*]	1
C5DC Carnitine	0:0,45	–	0,34 [#]	0,22 [#]	0,03:0,36 [#]	0,04 [#] :0,29 [#]	–	–	–	–	0,4
C6 Carnitine	0:0,35	0,02 [#] :0,18 [#]	0,16 [#]	0,13	0,04 [#] :0,51 [#]	0,00 [#] :0,09	0,02:0,08	0,02:0,07	> 0,1	0,01:0,09	–
C8 Carnitine	0:0,5	0,02 [#] :0,21 [#]	0,19 [#]	0,11 [#]	0,05 [#] :0,43 [#]	0,00 [#] :0,14 [#]	0,03 [#] :0,10 [#]	0,03 [#] :0,10 [#]	> 0,15	0,01:0,13 [#]	0,4
C10 Carnitine	0:0,43	0,02:0,26 [#]	0,26 [#]	0,21 [#]	0,05 [#] :0,45 [#]	0,03 [#] :0,18 [#]	0,03 [#] :0,15 [#]	0,03 [#] :0,14 [#]	–	0,01:0,20 [#]	–
C12 Carnitine	0:0,35	0,04:0,41 [*]	0,41 [*]	0,56	0,08 [#] :0,81 [#]	0,03 [#] :0,23 [*]	0,04:0,17 [*]	0,03 [#] :0,15 [*]	–	0,01 [#] :0,20 [*]	0,4
C14 Carnitine	0:0,555	0,07:0,5 [#]	0,43 [#]	0,38 [#]	0,10 [#] :0,84 [#]	0,11 [#] :0,51 [#]	0,10 [#] :0,32 [#]	0,09 [#] :0,27	> 0,4	0,04 [#] :0,38 [#]	–
C16 Carnitine	0,11:6,3	0,8 [#] :6,0 [#]	5,06	5,81 [#]	0,72 [#] :6,17 [#]	0,88 [#] :7,23 [#]	1,45 [#] :5,51 [#]	1,35 [#] :5,14 [#]	> 6,5	0,38:5,24	5,5
C18 Carnitine	0,07:2,4	0,31:1,7 [#]	2,59 [#]	1,58 [#]	0,30 [#] :2,00 [#]	0,32:1,69 [#]	0,46 [#] :1,44 [#]	0,44 [#] :1,40 [#]	> 1,9	0,19 [#] :1,70 [#]	–

Примечание: * – наш RI выше, чем RI в сопоставимом исследовании; [#] – наш RI ниже, чем RI в сопоставимом исследовании

Согласно руководству «Clinical and Laboratory Standards Institute» (CLSI CA28-3, 2018), лаборатории, разрабатывающие и оценивающие референсные интервалы, должны учитывать сопоставимость референсной популяции, преаналитических и аналитических методов исследования. Для проведения сравнительного анализа сопоставлены результаты аналогичных исследований в других странах мира. Критериями включения в сравнительный анализ явились: возраст до 28 суток жизни; использование метода ВЭЖХ-МС/МС для установления концентраций ацилкарнитинов; валидированная аналитическая методика; применение непараметрических методов для статистической оценки данных.

Количество исследуемых новорожденных варьировало от 120 (Бангладеш) до 25–30 млн (мультицентровое исследование). Согласно CLSI CA28-3 (2018), для установления референсных интервалов в исследование должно быть включено не менее 120 «референсных» респондентов.

Результаты представленного исследования свидетельствуют о различиях референсных значений ацилкарнитинов. Так, концентрация свободного карнитина (C0) у новорожденных детей Иркутской области ниже, чем у новорожденных в других странах, но верхняя граница референсных интервалов сопоставима с данными из Китая. Ниже концентрации ацилкарнитинов C2, C3, C5DC, C8, C10, C14 (верхнее значение референсного интервала у девочек сопоставимо с данными новорожденных Китая), C16 (собственные данные сопоставимы с данными новорожденных Германии и Тибета), C18.

Концентрации C4 в нашем исследовании сопоставимы с данными мультицентрового исследования (45 стран), Колумбии, Бангладеш и при этом выше, чем в Австрии, Китае и Тибете, и ниже, чем в Германии. Содержание C6 в нашем исследовании сопоставимо с данными Австрии, Бангладеш, Китая и Тибета, но ниже, чем в мультицентровом исследовании, Германии, Колумбии.

Концентрации C5 выше, чем у новорожденных детей в других странах, – в мультицентровом исследовании, Германии, Австрии, Китае, Тибете, Колумбии, Бангладеш. Концентрации C12 у новорожденных Иркутской области выше, чем Германии, Бангладеш, Китае, Тибете, но ниже, чем в Колумбии, и сопоставимы с данными Австрии.

Причиной различий в концентрациях, по мнению J.A. Schmidt и соавт., могут быть различия культуры питания: у мясоедов выше концентрации C0, C3, C4, C5 и C16 по сравнению с любителями рыбы, вегетарианцами и веганами [19]. Известно, в питании жителей Иркутской области высок удельный вес белков и жиров животного происхождения [20], что позволяет подойти к пониманию возможных особенностей референсных диапазонов ацилкарнитинов у новорожденных Прибайкалья.

Другими факторами, которые можно рассмотреть в качестве причин различий в концентрациях, являются возраст и масса тела респондента. E. Vieira Neto и соавт. указывают на отсутствие или слабую корреляцию между концентрацией ацилкарнитинов в сухих пятнах кро-

ви и массой тела при рождении или гестационным возрастом [21]. Однако на концентрации может влиять возраст новорожденного. Было определено, что в группах новорожденных в возрасте от 8 до 30 дней концентрации ацилкарнитинов выше, чем у новорожденных в возрасте до 7 дней [22].

Наиболее существенные различия наблюдались в референсных концентрациях среднепочечного ацилкарнитина C10, верхняя граница референсных интервалов которого в нашем исследовании более чем в 2 раза ниже, чем у новорожденных других стран мира, а также короткоцепочечных ацилкарнитинов (по ацилкарнитину C2 наши референсные значения преимущественно в 2–3 раза ниже; по ацилкарнитину C3 наши референсные диапазоны преимущественно в 2 раза ниже).

Дефицит короткоцепочечной ацил-КоА-дегидрогеназы наследуется аутосомно-рецессивно; его предполагаемая частота составляет от 1:50000 до 1:1000 в Нидерландах [3]. Ацил-КоА-дегидрогеназа с короткой цепью (SCAD, short-chain acyl-CoA dehydrogenase) участвует в первой стадии митохондриального β -окисления жирных кислот длиной от четырёх до шести атомов углерода.

Во многих случаях отмечают бессимптомное течение, поэтому дефицит SCAD теперь рассматривается как биохимический фенотип, а не заболевание. Большинство выявленных случаев дефицита SCAD остаётся бессимптомным на протяжении нескольких лет [10].

Клинические проявления заболевания вариабельны: чаще всего наблюдаются мышечная гипотония и задержка развития (приобретение моторных сидеть/ходить и/или речевых, а также социальных навыков), судороги при отсутствии гипокетотической гипогликемии, – в отличие от других заболеваний с нарушением β -окисления жирных кислот и карнитиновой системы.

Симптомы дефицита SCAD возникают вследствие мутаций гена *ACADS* (12q24), кодирующего короткоцепочечную ацил-КоА дегидрогеназу жирных кислот от C2 до C3, и дефицита короткоцепочечной 3-гидроксиацил-КоА дегидрогеназы (*SCHAD*) вследствие мутации гена *HADH* (4q25).

При мутациях гена *ACADS* в плазме определяется повышенная концентрация бутирилкарнитина (C4) и/или этилмалоновой кислоты (EMA), увеличивается соотношение этерифицированный карнитин/свободный карнитин C0. В моче определяется этилмалоновая ацидурия, увеличивается экскреция бутирилглицина и метилантарной кислоты. Для более точной диагностики необходимы подтверждающие методы, так как высокий уровень C4 характерен не только для дефицита короткоцепочечной ацил-КоА-дегидрогеназы, но и для дефицита изобутирил-КоА-дегидрогеназы, а повышенная экскреция этилмалоновой кислоты наблюдается при других заболеваниях, например, при множественном дефиците ацил-КоА-дегидрогеназы, митохондриальных заболеваниях дыхательной цепи, синдроме этилмалоновой энцефалопатии [3]. Возможно проведение моле-

кулярно-генетического анализа с целью определения мутаций в гене *SCAD*, однако не выявлено часто встречающихся мутаций, однозначно вызывающих заболевание. Имеются сведения о двух генетических вариантах (*511C>T*; *625G>A*), распространённых в европейской популяции, способствующих предрасположенности к заболеванию при наличии других генетических и клеточных факторов. Также диагноз подтверждается при проведении биопсии мышц для измерения ферментативной активности *SCAD* [23]. Лечение дефицита ацил-КоА дегидрогеназы жирных кислот с короткой цепью основывается на частом дробном питании с исключением голодания, снижении в рационе содержания липидов, увеличении потребления продуктов, богатых углеводами, а также назначении витаминов группы В [1]. При наличии судорожного синдрома назначаются антиконвульсанты, кроме вальпроатов [24].

Дефицит короткоцепочечной 3-гидроксиацил-КоА дегидрогеназы (*SCHAD*) является аутомно-рецессивным заболеванием, связанным с мутациями гена *SCHAD* или *HADH* (гидроксиацил-коэнзим дегидрогеназа), кодирующего короткоцепочечную 3-гидроксиацил-КоА дегидрогеназу жирных кислот (*SCHAD*).

Заболевание в большинстве случаев манифестирует на первом году жизни, но возможен и более поздний возраст начала симптомов. Описано около десяти случаев дефицита *SCHAD* [10].

Основные клинические проявления дефицита *SCHAD* отличаются от других наследственных дефектов β -окисления жирных кислот, поскольку при нём гипогликемия связана с гиперинсулинизмом. Р.Т. Clayton и соавт. (2001) сообщили о младенце женского пола от неродственных индийских родителей, у которого в возрасте 4 месяцев дебютировали гипогликемические судороги. Дальнейшие эпизоды гипокетотической гипогликемии были связаны с неадекватно повышенными концентрациями инсулина в плазме. Однако, в отличие от других детей с гиперинсулинизмом, у этого пациента отмечалась стойко повышенная концентрация гидроксибутирилкарнитина в пятнах крови как при приёме пищи, так и натощак. Измерение активности L-3-гидроксиацил-КоА-дегидрогеназы в культивируемых фибробластах кожи с субстратом ацетоацетил-КоА показало снижение её активности. Секвенирование геномной ДНК короткоцепочечной L-3-гидроксиацил-КоА-дегидрогеназы (*SCHAD*) выявило гомозиготную мутацию (*C773T*), детерминирующую замену пролина на лейцин в положении 258. Анализ крови родителей показал, что они гетерозиготны по данной мутации. Исследования экспрессии показали, что фермент P258L не обладает каталитической активностью, что позволило авторам свидетельствовать о патогенетической роли мутации *C773T* гена *SCHAD* в формировании данного заболевания [25].

В подростковом возрасте у носителей мутации гена *SCHAD* регистрируются миоглобинурия, гипокетотическая гипогликемическая энцефалопатия, гипертрофическая/дилатационная кардиомиопатия, мышечная гипотония, стеатоз печени, печёночная недостаточность. Нередко отмечаются эпилептические приступы, миопатия,

задержка физического развития, нарушения вскармливания [26, 27]. Стресс и голодание способны провоцировать симптомы. Позднее установление диагноза способно привести к формированию эпилепсии и когнитивным нарушениям на фоне рецидивирующей гипогликемии [10].

Распространённость дефицита ацил-КоА-дегидрогеназы жирных кислот со средней длиной углеродной цепи (*MCAD*, medium-chain acyl-CoA dehydrogenase deficiency) составляет 1:10000 новорождённых [3]. При этом частота дефицита ацил-КоА-дегидрогеназы средней цепи (*MCAD*) по данным тандемного масс-спектрометрического скрининга пятен крови выше частоты клинических проявлений. Так, частота по данным масс-спектрометрического скрининга составляет 1:14600 (95% ДИ: 1:13500–1:15900), т. е. почти у 8,2 млн новорождённых во всём мире, что в 2–3 раза выше, чем в той же популяции после клинических проявлений [28].

Заболевание связано с нарушением работы ферментов, что приводит к накоплению жирных кислот со средней длиной цепи из-за нарушения их расщепления в процессе β -окисления. Ген *Acyl-CoA Dehydrogenase Medium Chain (ACADM)*, кодирующий среднецепочечную ацил-КоА дегидрогеназу жирных кислот, расположен в 1p31.1. Описано 502 патогенных или вероятно патогенных варианта (GeneCards.org, 12.06.2022).

Проявление заболевания возможно в любом возрасте. Пусковыми факторами дебюта заболевания являются голодание или метаболический стресс, приводящие к гипогликемии, коме и летальному исходу. Уже при первом эпизоде катаболической декомпенсации четверть пациентов погибает, у 10–30 % пациентов наблюдаются стойкие неврологические нарушения [29].

В плазме крови определяется гипогликемия, повышаются уровни свободных жирных кислот C8, C10:1 и C10. Обнаруживаются высокие уровни ацилкарнитинов C6, C8, C10 и C10:1, среди которых C8-карнитин является наиболее значимым. Концентрации ацилкарнитинов определяются не только в периоды декомпенсации, но и в периоды стабильности, поэтому могут быть использованы при скрининге новорождённых. Уровень свободного карнитина понижен. Соотношение ацилкарнитин/свободный карнитин увеличивается. Также определяются повышенные соотношения C8/C10 и C8/C2, с помощью которых можно дифференцировать поражённых людей от носителей. Подтверждение диагноза проводят путём обнаружения сходных изменений в профиле ацилкарнитина в плазме, повышенных концентраций гексаноилглицина и суберилглицина в моче, определением ферментативной активности в фибробластах, лимфоцитах или мышечных тканях, а также идентификацией патогенных вариантов в гене *ACADM* [3, 29]. По результатам массового неонатального скрининга в популяциях новорождённых США, на мутацию *985A>G (K329E)* приходится 54–90 % аллелей болезни, при этом гомозиготы составляют около 47–80 % случаев дефицита жирных кислот со средней длиной цепи. Во всём мире уровни октаноилкарнитина C8 являются эффективным пер-

вичным скринингом дефицита MCAD у новорождённых. Новорождённые, гомозиготные по мутации 985A<G, имеют более высокие уровни октаноилкарнитина, чем компаунд-гетерозиготные по мутации 985A<G и дети с другими генотипами [28].

Пациентам рекомендован отказ от голодания. Возможно назначение добавок карнитина, однако нет однозначных данных о его эффективности при дефиците MCAD [29].

Дефицит длинноцепочечной 3-гидроксиацил-КоА-дегидрогеназы (LCHAD, long-chain 3-hydroxyacyl-CoA dehydrogenase) диагностируется с частотой 1:244000 [3] и относится к аутосомно-рецессивным заболеваниям.

Клиническая картина характеризуется вялостью, гипогликемией, гипотонией, кардиомиопатией и острым метаболическим кризисом. От других нарушений β-окисления данные формы отличаются наличием ретинопатии и периферической невропатии. В зависимости от начала манифестации заболевания выделяют три формы: форма с ранним началом, для которой характерны острая манифестация (рвота, судороги, вялость, нарушения дыхания), кардиомиопатия, гипогликемия и внезапная детская смерть; младенческая форма, которая чаще манифестирует как синдром Рейе, характеризуется рецидивирующей гипокетотической гипогликемией и вялостью натошак или при вирусных инфекциях, во время приступа возможна внезапная смерть; более лёгкая форма с поздним началом, которая возникает в ответ на физическое переутомление, голод или инфекции и связана с прогрессирующей периферической невропатией, рецидивирующим рабдомиолизом и дисфункцией печени.

Диагностика основана на определении ацилкарнитин C16OH, C16:1OH, C18OH в плазме, ацилглицинов в моче и анализе органических кислот в моче [30]. Однако их повышение не является специфичным для данных состояний. В моче определяется C6-C14-дикарбоновая ацидурия, отсутствие ацилглицинов и кетонурии. Подтверждающая диагностика основывается на измерении ферментативной активности фибробластов или лимфоцитов, а также генетических исследованиях. К дефициту LCHAD приводит мутация в гене *Hydroxyacyl-CoA Dehydrogenase Trifunctional Multienzyme Complex Subunit Alpha (HADHA)*, расположенном в 2p23.3 (Genecards.org, 12.06.2022).

Лечение также основано на отказе от голодания, диете с низким содержанием длинноцепочечных жирных кислот (жирные сорта рыб, растительное масло, орехи), использовании добавок карнитина [3, 31].

Есть данные о возможности определения ацилкарнитин C16OH в пуповинной крови, что позволяет раньше диагностировать нарушения метаболизма ацилкарнитин C16OH, однако данный метод не выявляет у новорождённых детей все наследственные нарушения обмена веществ, которые определяются только на 4–7-й день в рамках неонатального скрининга. Кроме того, определение в пуповинной крови изменённых уровней ацилкарнитин C16OH и других метаболитов может свидетельствовать о наличии заболевания не у ребёнка, а у матери [21, 32]. Также при исследовании пуповинной крови следует учи-

тывать, что концентрация ацилкарнитин C16OH в ней меньше, чем в крови новорождённого на 4–7-й день жизни. Это предположительно связано с ограниченным переносом жирных кислот через плаценту и, как следствие, с низким уровнем липидов в крови у новорождённых, а также вызвано адаптацией к грудному молоку, содержащему большую концентрацию жирных кислот [21].

Ограничения исследования

Представленное исследование является пилотным. Дальнейшее изучение данной темы с увеличением объёма изучаемой выборки позволит получить более надёжные пороговые значения ацилкарнитин C16OH у новорождённых Сибири.

Пороговые значения ацилкарнитин C16OH зависят от этнической и расовой принадлежности исследуемых. В данном исследовании референсных интервалов ацилкарнитин C16OH у новорождённых в Иркутской области отсутствовало указание на расовую и этническую принадлежность до трёх поколений. По данным Всероссийской переписи населения 2010 г., в изучаемом регионе проживает 88,28 % русских, 1,27 % украинцев и 0,33 % белорусов, что позволяет свидетельствовать о преимущественном проживании в изучаемом регионе европеоидов.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Результаты сравнительного анализа свидетельствуют об отличии референсных значений свободного карнитин C16OH и ацилкарнитин C16OH от аналогичных данных в других популяциях мира. При этом референсные интервалы C0, C2, C3, C5DC, C8, C10, C14, C16 и C18 в нашем исследовании ниже, а референсные интервалы C5 и C12 – выше, чем у новорождённых других популяций мира.

Конфликт интересов

Авторы данной статьи сообщают об отсутствии конфликта интересов.

Благодарности

Авторы выражают благодарность сотрудникам ГБУЗ «Иркутский областной перинатальный центр» и всем медицинским сотрудникам, принявшим участие в заборе биоматериала для неонатального скрининга.

ЛИТЕРАТУРА

1. Николаева Е.А., Мамедов И.С. Диагностика и лечение наследственных дефектов обмена жирных кислот у детей. *Российский вестник перинатологии и педиатрии*. 2009; 54(2): 51-65.
2. Николаева Е.А., Шулякова И.В., Цыганкова П.Г., Байдакова Г.В., Захарова Е.Ю., Белоусова Е.Д. Симптоматическая эпилепсия как проявление дефицита ацил-КоА дегидрогеназы жирных кислот с очень длинной углеводной цепью. *Российский вестник перинатологии и педиатрии*. 2008; 53(3): 87-91.
3. Ruiz-Sala P, Peña-Quintana L. Biochemical markers for the diagnosis of mitochondrial fatty acid oxidation diseases. *J Clin Med*. 2021; 10(21): 4855. doi: 10.3390/jcm10214855

4. La Marca G. Mass spectrometry in clinical chemistry: the case of newborn screening. *J Pharm Biomed Anal.* 2014; 101: 174-182. doi: 10.1016/j.jpba.2014.03.047
5. Knottnerus SJ, Bleeker JC, Wüst RC, Ferdinandusse S, IJlst L, Wijburg FA, et al. Disorders of mitochondrial long-chain fatty acid oxidation and the carnitine shuttle. *Rev Endocr Metab Disord.* 2018; 19(1): 93-106. doi: 10.1007/s11154-018-9448-1
6. McHugh D, Cameron CA, Abdenur JE, Abdulrahman M, Adair O, Al Nuaimi SA, et al. Clinical validation of cutoff target ranges in newborn screening of metabolic disorders by tandem mass spectrometry: A worldwide collaborative project. *Genet Med.* 2011; 13(3): 230-254. doi: 10.1097/GIM.0b013e31820d5e67
7. Céspedes N, Valencia A, Echeverry CA, Arce-Plata MI, Colón C, Castiñeiras DE, et al. Reference values of amino acids, acylcarnitines and succinylacetone by tandem mass spectrometry for use in newborn screening in southwest Colombia. *Colombia Médica.* 2017; 48(3): 113-119. doi: 10.25100/cm.v48i3.2180
8. Zhang C, Dha D, Cheng Y, Ma Y, Meng Y, Tse D, et al. An investigation of amino acid and acylcarnitine levels in neonates from the Tibet Autonomous. *Research Square [Preprint].* 2019. doi: 10.21203/rs.2.18538/v1
9. Bermúdez A, Robayo D, Porras G, Acosta MA. Amino acids and acylcarnitines reference values for neonatal screening of inborn errors of metabolism in Colombia by tandem mass spectrometry. *J Inborn Errors Metab Screeng.* 2021; 9. doi: 10.1590/2326-4594-JIEMS-2021-0012
10. Союз педиатров России. *Клинические рекомендации. Нарушения митохондриального β-окисления жирных кислот.* URL: <https://www.pediatr-russia.ru/> [дата доступа: 06.05.2022].
11. Sarker SK, Islam MT, Biswas A, Bhuyan GS, Sultana R, Sultana N, et al. Age-specific cut-off values of amino acids and acylcarnitines for diagnosis of inborn errors of metabolism using liquid chromatography tandem mass spectrometry. *BioMed Res Int.* 2019; 2019: 3460902. doi: 10.1155/2019/3460902
12. He F, Yang R, Huang X, Tian Y, Pei X, Bohn MK, et al. Reference standards for newborn screening of metabolic disorders by tandem mass spectrometry: A nationwide study on millions of Chinese neonatal populations. *Frontiers Mol Biosci.* 2021; 8: 719866. doi: 10.3389/fmolb.2021.719866
13. Strnadova KA, Holub M, Muhl A, Heinze G, Ratschmann R, Mascher H, et al. Long-term stability of amino acids and acylcarnitines in dried blood spots. *Clin Chem.* 2007; 53(4): 717-722. doi: 10.1373/clinchem.2006.076679
14. Mussap M, Antonucci R, Noto A, Fanos V. The role of metabolomics in neonatal and pediatric laboratory medicine. *Clin Chim Acta.* 2013; 426: 127-138. doi: 10.1016/j.cca.2013.08.020
15. *Медико-генетический научный центр имени академика Н.П. Бочкова: официальный сайт.* URL: <https://med-gen.ru> [дата доступа: 02.04.2022].
16. Chromsystems Instruments & Chemicals GmbH. *Mass-Chrom® amino acids and acylcarnitines from dried blood – LC-MS/MS.* URL: <https://chromsystems.com/> [date of access: 04.04.2022].
17. Yang CJ, Wei N, Li M, Xie K, Li JQ, Huang CG, et al. Diagnosis and therapeutic monitoring of inborn errors of metabolism in 100,077 newborns from Jining city in China. *BMC Pediatr.* 2018; 18(1): 1-8. doi: 10.1186/s12887-018-1090-2
18. Tangeraas T, Sæves I, Klingenberg C, Jørgensen J, Kristensen E, Gunnarsdottir G, et al. Performance of expanded newborn screening in Norway supported by post-analytical bioinformatics tools and rapid second-tier DNA analyses. *Int J Neonatal Screen.* 2020; 6(3): 51. doi: 10.3390/ijns6030051
19. Schmidt JA, Rinaldi S, Ferrari P, Carayol M, Achaintre D, Scalbert A, et al. Metabolic profiles of male meat eaters, fish eaters, vegetarians, and vegans from the EPIC-Oxford cohort. *Am J Clin Nutr.* 2015; 102(6): 1518-1526. doi: 10.3945/ajcn.115.111989
20. Баирова Т.А., Долгих В.В., Колесникова Л.И., Первушина О.А. Нутрициогенетика и факторы риска сердечно-сосудистой патологии: ассоциативные исследования в популяциях Восточной Сибири. *Acta biomedica scientifica.* 2013; (4): 87-92.
21. Vieira Neto E, Fonseca AA, Almeida RF, Figueiredo, MP, Porto MAS, Ribeiro MG. Analysis of acylcarnitine profiles in umbilical cord blood and during the early neonatal period by electrospray ionization tandem mass spectrometry. *Braz J Med Biol Res.* 2012; 45(6): 546-556. doi: 10.1590/S0100-879X2012007500056
22. De T, Kruthika-Vinod TP, Nagaraja D, Christopher R. Postnatal variations in blood free and acylcarnitines. *J Clin Lab Anal.* 2011; 25(2): 126-129. doi: 10.1002/jcla.20445
23. Nagan N, Kruckeberg KE, Tauscher AL, Bailey KS, Rinaldo P, Matern D. The frequency of short-chain acyl-CoA dehydrogenase gene variants in the US population and correlation with the C4-acylcarnitine concentration in newborn blood spots. *Mol Genet Metab.* 2003; 78(4): 239-246. doi: 10.1016/S1096-7192(03)00034-9
24. *Orphanet.* URL: <https://www.orpha.net/> [date of access: 12.06.2022].
25. Clayton PT, Eaton S, Aynsley-Green A, Edginton M, Hussain K, Krywawych S, et al. Hyperinsulinism in short-chain L-3-hydroxyacyl-CoA dehydrogenase deficiency reveals the importance of β-oxidation in insulin secretion. *J Clin Invest.* 2001; 108(3): 457-465. doi: 10.1172/JCI11294
26. Darenskaya M, Grebenkina L, Gnusina S, Kolesnikov S, Kolesnikova L. Parameters of antioxidant defense system in patients with diabetes mellitus from various ethnicity. *Diabetes Technol Ther.* 2018; 20(1): 142-143.
27. Иевлева К.Д., Баирова Т.А., Калюжная О.В., Первушина О.А., Рычкова Л.В., Колесникова Л.И., и др. Ген фолатного цикла *MTHFR* и питание. *Acta biomedica scientifica.* 2016; 1(3-2): 138-144.
28. Rhead WJ. Newborn screening for medium-chain acyl-CoA dehydrogenase deficiency: A global perspective. *J Inherit Metab Dis.* 2006; 29(2-3): 370-377. doi: 10.1007/s10545-006-0292-1
29. Anderson DR, Viau K, Botto LD, Pasquali M, Longo N. Clinical and biochemical outcomes of patients with medium-chain acyl-CoA dehydrogenase deficiency. *Mol Gen Metab.* 2020; 129(1): 13-19. doi: 10.1016/j.ymgme.2019.11.006
30. Browning MF, Larson C, Strauss A, Marsden DL. Normal acylcarnitine levels during confirmation of abnormal newborn screening in long-chain fatty acid oxidation defects. *J Inherit Metab Dis.* 2005; 28(4): 545-550. doi: 10.1007/s10545-005-0545-4
31. Stinton C, Fraser H, Geppert J, Johnson R, Connock M, Johnson S. Newborn screening for long-chain 3-hydroxyacyl-CoA dehydrogenase and mitochondrial trifunctional protein deficiencies using acylcarnitines measurement in dried blood spots – A systematic review of test accuracy. *Front Pediatr.* 2021; 9: 110. doi: 10.3389/fped.2021.606194
32. Walter JH, Patterson A, Till J, Besley GTN, Fleming G, Henderson MJ. Bloodspot acylcarnitine and amino acid analysis in cord blood samples: Efficacy and reference data from a large cohort study. *J Inherit Metab Dis.* 2009; 32(1): 95-101. doi: 10.1007/s10545-008-1047-y

REFERENCES

1. Nikolayeva EA, Mamedov IS. Hereditary fatty acid metabolic defects in children: diagnosis and treatment. *Rossiyskiy vestnik perinatologii i pediatrii*. 2009; 54(2): 51-65. (In Russ.).
2. Nikolayeva EA, Shulyakova IV, Tsygankova PG, Baidakova GV, Zakharova EYu, Belousova ED. Symptomatic epilepsy as a manifestation of very long chain acyl-coa dehydrogenase deficiency. *Rossiyskiy vestnik perinatologii i pediatrii*. 2008; 53(3): 87-91. (In Russ.).
3. Ruiz-Sala P, Peña-Quintana L. Biochemical markers for the diagnosis of mitochondrial fatty acid oxidation diseases. *J Clin Med*. 2021; 10(21): 4855. doi: 10.3390/jcm10214855
4. La Marca G. Mass spectrometry in clinical chemistry: the case of newborn screening. *J Pharm Biomed Anal*. 2014; 101: 174-182. doi: 10.1016/j.jpba.2014.03.047
5. Knottnerus SJ, Bleeker JC, Wüst RC, Ferdinandusse S, IJlst L, Wijburg FA, et al. Disorders of mitochondrial long-chain fatty acid oxidation and the carnitine shuttle. *Rev Endocr Metab Disord*. 2018; 19(1): 93-106. doi: 10.1007/s11154-018-9448-1
6. McHugh D, Cameron CA, Abdenuur JE, Abdulrahman M, Adair O, Al Nuaيمي SA, et al. Clinical validation of cutoff target ranges in newborn screening of metabolic disorders by tandem mass spectrometry: A worldwide collaborative project. *Genet Med*. 2011; 13(3): 230-254. doi: 10.1097/GIM.0b013e31820d5e67
7. Céspedes N, Valencia A, Echeverry CA, Arce-Plata MI, Colón C, Castiñeiras DE, et al. Reference values of amino acids, acylcarnitines and succinylacetone by tandem mass spectrometry for use in newborn screening in southwest Colombia. *Colombia Médica*. 2017; 48(3): 113-119. doi: 10.25100/cm.v48i3.2180
8. Zhang C, Dha D, Cheng Y, Ma Y, Meng Y, Tse D, et al. An investigation of amino acid and acylcarnitine levels in neonates from the Tibet Autonomous. *Research Square [Preprint]*. 2019. doi: 10.21203/rs.2.18538/v1
9. Bermúdez A, Robayo D, Porras G, Acosta MA. Amino acids and acylcarnitines reference values for neonatal screening of inborn errors of metabolism in colombia by tandem mass spectrometry. *J Inborn Errors Metab Screen*. 2021; 9. doi: 10.1590/2326-4594-JIEMS-2021-0012
10. The Union of Pediatricians of Russia. *Clinical guidelines. Disorders in mitochondrial β -oxidation of fatty acids*. URL: <https://www.pediatr-russia.ru/> [date of access: 06.05.2022]. (In Russ.).
11. Sarker SK, Islam MT, Biswas A, Bhuyan GS, Sultana R, Sultana N, et al. Age-specific cut-off values of amino acids and acylcarnitines for diagnosis of inborn errors of metabolism using liquid chromatography tandem mass spectrometry. *BioMed Res Int*. 2019; 2019: 3460902. doi: 10.1155/2019/3460902
12. He F, Yang R, Huang X, Tian Y, Pei X, Bohn MK, et al. Reference standards for newborn screening of metabolic disorders by tandem mass spectrometry: A nationwide study on millions of Chinese neonatal populations. *Frontiers Mol Biosci*. 2021; 8: 719866. doi: 10.3389/fmolb.2021.719866
13. Strnadova KA, Holub M, Muhl A, Heinze G, Ratschmann R, Mascher H, et al. Long-term stability of amino acids and acylcarnitines in dried blood spots. *Clin Chem*. 2007; 53(4): 717-722. doi: 10.1373/clinchem.2006.076679
14. Mussap M, Antonucci R, Noto A, Fanos V. The role of metabolomics in neonatal and pediatric laboratory medicine. *Clin Chim Acta*. 2013; 426: 127-138. doi: 10.1016/j.cca.2013.08.020
15. *Research Centre for Medical Genetics*. URL: <https://med-gen.ru> [date of access: 02.04.2022]. (In Russ.).
16. Chromsystems Instruments & Chemicals GmbH. *Mass-Chrom® amino acids and acylcarnitines from dried blood – LC-MS/MS*. URL: <https://chromsystems.com/> [date of access: 04.04.2022].
17. Yang CJ, Wei N, Li M, Xie K, Li JQ, Huang CG, et al. Diagnosis and therapeutic monitoring of inborn errors of metabolism in 100,077 newborns from Jining city in China. *BMC Pediatr*. 2018; 18(1): 1-8. doi: 10.1186/s12887-018-1090-2
18. Tangeraas T, Sæves I, Klingenberg C, Jørgensen J, Kristensen E, Gunnarsdottir G, et al. Performance of expanded newborn screening in Norway supported by post-analytical bioinformatics tools and rapid second-tier DNA analyses. *Int J Neonatal Screen*. 2020; 6(3): 51. doi: 10.3390/ijns6030051
19. Schmidt JA, Rinaldi S, Ferrari P, Carayol M, Achaintre D, Scalbert A, et al. Metabolic profiles of male meat eaters, fish eaters, vegetarians, and vegans from the EPIC-Oxford cohort. *Am J Clin Nutr*. 2015; 102(6): 1518-1526. doi: 10.3945/ajcn.115.111989
20. Bairova TA, Dolgikh VV, Kolesnikova LI, Pervushina OA. Nutritciogenetics and risk factors of cardiovascular disease: Associated research in Eastern Siberia populations. *Acta biomedica scientifica*. 2013; (4): 87-92. (In Russ.).
21. Vieira Neto E, Fonseca AA, Almeida RF, Figueiredo MP, Porto MAS, Ribeiro MG. Analysis of acylcarnitine profiles in umbilical cord blood and during the early neonatal period by electrospray ionization tandem mass spectrometry. *Braz J Med Biol Res*. 2012; 45(6): 546-556. doi: 10.1590/S0100-879X2012007500056
22. De T, Kruthika-Vinod TP, Nagaraja D, Christopher R. Postnatal variations in blood free and acylcarnitines. *J Clin Lab Anal*. 2011; 25(2): 126-129. doi: 10.1002/jcla.20445
23. Nagan N, Kruckeberg KE, Tauscher AL, Bailey KS, Rinaldo P, Matern D. The frequency of short-chain acyl-CoA dehydrogenase gene variants in the US population and correlation with the C4-acylcarnitine concentration in newborn blood spots. *Mol Genet Metab*. 2003; 78(4): 239-246. doi: 10.1016/S1096-7192(03)00034-9
24. *Orphanet*. URL: <https://www.orpha.net/> [date of access: 12.06.2022].
25. Clayton PT, Eaton S, Aynsley-Green A, Edginton M, Hussain K, Krywawych S, et al. Hyperinsulinism in short-chain L-3-hydroxyacyl-CoA dehydrogenase deficiency reveals the importance of β -oxidation in insulin secretion. *J Clin Invest*. 2001; 108(3): 457-465. doi: 10.1172/JCI11294
26. Darenskaya M, Grebenkina L, Gnusina S, Kolesnikov S, Kolesnikova L. Parameters of antioxidant defense system in patients with diabetes mellitus from various ethnicity. *Diabetes Technol Ther*. 2018; 20(1): 142-143.
27. Ievleva KD, Bairova TA, Kalyuzhnaya OV, Pervushina OA, Rychkova LV, Kolesnikova LI, et al. Gene of folate cycle *MTHFR* and nutrition. *Acta biomedica scientifica*. 2016; 1(3-2): 138-144. (In Russ.).
28. Rhead WJ. Newborn screening for medium-chain acyl-CoA dehydrogenase deficiency: A global perspective. *J Inher Metab Dis*. 2006; 29(2-3): 370-377. doi: 10.1007/s10545-006-0292-1
29. Anderson DR, Viau K, Botto LD, Pasquali M, Longo N. Clinical and biochemical outcomes of patients with medium-chain acyl-CoA dehydrogenase deficiency. *Mol Gen Metab*. 2020; 129(1): 13-19. doi: 10.1016/j.ymgme.2019.11.006
30. Browning MF, Larson C, Strauss A, Marsden DL. Normal acylcarnitine levels during confirmation of abnormal newborn

screening in long-chain fatty acid oxidation defects. *J Inherit Metab Dis*. 2005; 28(4): 545-550. doi: 10.1007/s10545-005-0545-4

31. Stinton C, Fraser H, Geppert J, Johnson R, Connock M, Johnson S. Newborn screening for long-chain 3-hydroxyacyl-CoA dehydrogenase and mitochondrial trifunctional protein deficiencies using acylcarnitines measurement in dried blood spots –

A systematic review of test accuracy. *Front Pediatr*. 2021; 9: 110. doi: 10.3389/fped.2021.606194

32. Walter JH, Patterson A, Till J, Besley GTN, Fleming G, Henderson MJ. Bloodspot acylcarnitine and amino acid analysis in cord blood samples: Efficacy and reference data from a large cohort study. *J Inherit Metab Dis*. 2009; 32(1): 95-101. doi: 10.1007/s10545-008-1047-y

Сведения об авторах

Немчинова Надежда Владимировна – лаборант-исследователь лаборатории персонализированной медицины, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: nemchinova.nad@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-9720-8750>

Баирова Татьяна Ананьевна – доктор медицинских наук, заведующая лабораторией персонализированной медицины, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: tbairova38@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-3704-830X>

Бельских Алексей Владимирович – кандидат химических наук, инженер лаборатории персонализированной медицины, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: alex590750@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0003-3678-7274>

Бугун Ольга Витальевна – доктор медицинских наук, заместитель директора по клинической работе – главный врач клиники, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: clinica_zam1@inbox.ru, <https://orcid.org/0000-0002-2162-3683>

Рычкова Любовь Владимировна – доктор медицинских наук, профессор, член-корреспондент РАН, директор, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: iphr@sbamsr.irk.ru, <https://orcid.org/0000-0003-2910-0737>

Information about the authors

Nadezhda V. Nemchinova – Research Assistant at the Laboratory of Personalized Medicine, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: nemchinova.nad@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-9720-8750>

Tatyana A. Bairava – Dr. Sc. (Med.), Head of the Laboratory of Personalized Medicine, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: tbairova38@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-3704-830X>

Aleksey V. Belskikh – Cand. Sc. (Chem.), Engineer at the Laboratory of Personalized Medicine, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: alex590750@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0003-3678-7274>

Olga V. Bugun – Dr. Sc. (Med.), Deputy Director for Clinical Work – Chief Physician of the Clinics, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: clinica_zam1@inbox.ru, <https://orcid.org/0000-0002-2162-3683>

Lyubov V. Rychkova – Dr. Sc. (Med.), Professor, Corresponding Member of RAS, Director, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: iphr@sbamsr.irk.ru, <https://orcid.org/0000-0003-2910-0737>

Статья опубликована в рамках V Всероссийской научно-практической конференции молодых учёных с международным участием «Фундаментальные и прикладные аспекты в медицине и биологии».